

# Efeito do extrato foliar de *Gossypium arboreum* L. (algodão) sob o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl.

Caroline da Cruz Vasconcelos<sup>1\*</sup>, Jaynna Gonar Lôbo Isacksson<sup>1</sup>, Camila Brandão da Silva<sup>2</sup>, Noelle Loyanna Lima Almeida Cabral<sup>3</sup>, Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida<sup>4</sup>, Rosângela da Conceição Marques Pena<sup>5</sup>

1. Engenharia Florestal (Universidade do Estado do Amapá). Mestranda em Botânica (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Brasil).

2. Engenharia Florestal (Universidade do Estado do Amapá). Mestranda em Biodiversidade Tropical (Universidade Federal do Amapá, Brasil).

3. Graduanda em Engenharia Florestal (Universidade do Estado do Amapá, Brasil).

4. Farmacêutica (Universidade Federal do Pará). Doutora em Química (Universidade Federal de São Carlos). Professora da Universidade Federal do Amapá, Brasil.

5. Engenharia Agrônoma (Universidade Federal Rural da Amazônia). Mestre em Agronomia (Universidade Federal de Lavras, Brasil). Professora da Universidade do Estado do Pará, Brasil.

\*Autor para correspondência: [engflocarolinevasconcelos@gmail.com](mailto:engflocarolinevasconcelos@gmail.com)

## RESUMO

O uso de extratos vegetais tem sido amplamente estudado como controle biológico alternativo de doenças de plantas, especialmente aquelas causadas por fungos patogênicos. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antifúngica *in vitro* do extrato bruto etanólico obtido de folhas de algodão (*Gossypium arboreum* L., Malvaceae) em diferentes concentrações sob o desenvolvimento micelial do fungo fitopatogênico *Lasiodiplodia theobromae*. O ensaio foi conduzido nos Laboratórios de Microbiologia/Fitopatologia/Genética e de Cultivo/Isolamento da Universidade do Estado do Amapá/UEAP, em Macapá, Amapá. Em um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), seis tratamentos e seis repetições foram organizados: T1 (controle negativo) - BDA (Batata-Dextrose-Ágar) + 0 mg.mL<sup>-1</sup> (extrato foliar); T2 - BDA + 5 mg.mL<sup>-1</sup> (extrato foliar); T3 - BDA + 10 mg.mL<sup>-1</sup> (extrato foliar); T4 - BDA + 20 mg.mL<sup>-1</sup> (extrato foliar); T5 - BDA + 2,5 mL de etanol e T6 (controle positivo) - BDA + 2,5 mL de fungicida comercial (Derosal®). As variáveis inibição do crescimento micelial (ICM), índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) e área abaixo da curva de cobertura de crescimento micelial (AACCM) foram calculadas ao final do experimento. Os resultados mostraram que o extrato bruto etanólico das folhas de *G. arboreum* não apresentou atividade antifúngica *in vitro* frente ao fungo *L. theobromae* nas concentrações testadas. O extrato induziu o crescimento micelial do fungo, especialmente na concentração 10 mg.mL<sup>-1</sup>, a qual apresentou condição ideal para o desenvolvimento das estruturas do fungo.

**Palavras-chave:** Malvaceae, extrato vegetal, controle biológico, fitopatôgeno.

## Effect of *Gossypium arboreum* L. (tree cotton) leaf extract against mycelial growth of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl.

## ABSTRACT

The use of plant extracts have been widely studied as an alternative biological control of plant diseases, especially those caused by phytopathogenic fungi. The aim of this study was to evaluate *in vitro* the antifungal activity of crude ethanolic extract obtained from tree cotton leaves (*Gossypium arboreum* L., Malvaceae) in different concentrations on mycelial development of the pathogenic fungi *Lasiodiplodia theobromae*. The experiment was conducted in the Microbiology/Plant pathology/Genetics and Cultivation/Isolation laboratories, the State University of Amapá/UEAP, in Macapá, Amapá. In a Completely Randomized Design (CRD), six treatments and six repetitions were organized: T1 (negative control) - PDA (Potato-Dextrose-Agar) + 0 mg.mL<sup>-1</sup> (leaf extract); T2 - PDA + 5 mg.mL<sup>-1</sup> (leaf extract); T3 - PDA + 10 mg.mL<sup>-1</sup> (leaf extract); T4 - PDA + 20 mg.mL<sup>-1</sup> (leaf extract); T5 - PDA + 2.5 mL of ethanol and T6 (positive control) - PDA + 2.5 mL of a commercial fungicide (Derosal®). The variables mycelial growth inhibition (MGI), mycelial growth velocity index (MGVI) and area under mycelial growth curve (AUMGC) were calculated at the end of the experiment. The results showed the crude ethanolic extract of *G. arboreum* leaves not presented antifungal activity *in vitro* against the fungus *L. theobromae* at the concentrations tested. The extract induced the mycelial growth, especially in a concentration of 10 mg.mL<sup>-1</sup>, which exhibited ideal condition for the development of fungal structures.

**Keywords:** Malvaceae; plant extract; biological control; phytopathogen.

## Introdução

*Gossypium arboreum* L. pertence à família Malvaceae *sensu* APG IV (BYND et al., 2016). No Brasil é uma planta exótica conhecida popularmente como algodão, bem como a maioria das espécies de *Gossypium* que formam o mais importante grupo de plantas de fibras no mundo (JOHN; THOMAS, 2012). Este gênero compreende 50 espécies descritas, distribuídas principalmente na África, Austrália, Arábia, Peru, México e Brasil (FRYXELL, 1992). Dentre as espécies de algodão cultivadas e domesticadas de forma independente no mundo, quatro se destacam: *Gossypium arboreum* e *Gossypium herbaceum* representadas no Velho Mundo e *Gossypium barbadense* e *Gossypium hirsutum* no Novo Mundo (BRUBAKER et al., 1999).

No Brasil, o cultivo de *G. arboreum* para uso interno, principalmente para fins medicinais é bastante relatado em comunidades tradicionais (BENTES-GAMA et al., 1999; COELHO-FERREIRA; JARDIM, 2005; LINHARES et al., 2015; SCOLLES, 2006; SCUDELLER et al., 2009; SILVA, 2002). Diferentes partes da planta são utilizadas para o tratamento de diversas doenças e enfermidades: uso das folhas como antimalárico (ADEBAYO; KRETTLI, 2011; AJAIYEBOA et al., 2006), anti-hipertensivo, antirreumático, antidiabético (DHUNDI et al., 2012; KAZEEM et al., 2013), antitussígeno, tonsilite, diurético, para queimaduras, hemorragias, gastrite, micoses e problemas respiratórios como asma; as flores são utilizadas como antitussígeno, para combater anemia, disenteria, hemorragia (SILVA, 2002), além de hipocondria e

inflamações brônquicas (DHUNDI et al., 2012); folhas, flores e cascas em conjunto são utilizados como diurético e contra asma; sementes como antitussígeno (SILVA, 2002), antipirético e o óleo de semente é utilizado externamente para limpar manchas e sardas da pele (DHUNDI et al., 2012); o fruto é usado no combate às micoses (SILVA, 2002), e ainda, relatado para retenção de placenta (WONDIMU et al., 2007).

A maioria dos estudos que buscaram investigar a presença de compostos químicos nas diferentes partes da planta de *G. arboreum* obtiveram resultados satisfatórios, principalmente porque a maioria dos compostos encontrados estão biologicamente relacionados com o uso popular medicinal dessa planta (ANNAN; HOUGHTON, 2008; HEDIN et al., 1992; MIRA-NETO; ALMEIDA, 2015; SAIDU; ABDULLAHI, 2011; WAAGE; HEDIN, 1984; WONDIMU et al., 2007). Vale ressaltar ainda que, as plantas de *Gossypium* contêm o gossipol, um aldeído triterpenoide que tem propriedades antitumorais (COYLE et al., 1994), além de inseticidas e antimicrobianas (WAAGE; HEDIN, 1984), o que confere resistência da planta frente a estes organismos (BRINK; ACHIGAN-DAKO, 2012). Inclusive, há registro de que o extrato da folha, bem como de outras partes da planta de *G. arboreum*, apresentam atividade antibacteriana (ANNAN; HOUGHTON, 2008; SAIDU; ABDULLAHI, 2011). Contudo, estudos acerca do uso do extrato foliar de *G. arboreum* para o controle de fungos fitopatogênicos ainda são incipientes.

Naturalmente, muitas plantas podem oferecer resistência frente aos diferentes patógenos associados (LEMOS et al., 1990). Essa resistência pode estar relacionada com a presença de substâncias inibitórias (compostos secundários) que agem direta ou indiretamente ativando os mecanismos de defesa das plantas (STANGARLIN et al., 2011). Além disso, a presença dessas substâncias pode contribuir para o uso no controle de doenças fitopatogênicas, inclusive em diferentes plantas, uma vez que estas são responsáveis por causar as maiores perdas de culturas no Brasil, especialmente àquelas de importância econômica (RIBEIRO; BEDENDO, 1999).

Para reduzir os danos causados, métodos físicos, químicos e biológicos vêm sendo amplamente empregados (ECKERT; OGAWA, 1985; SITTON; PATTERSON, 1992; WILSON; WISNIEWSKI, 1994). O uso de agroquímicos, por exemplo, contribui para o aumento da produtividade agrícola, entretanto tem sido responsável por causar efeitos adversos ao meio ambiente e à saúde humana (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004; STANGARLIN et al., 2011). Nesse sentido, o uso de extratos vegetais visando a exploração de propriedades tóxicas aos diferentes patógenos vem se mostrando uma alternativa de controle (ARAÚJO et al., 2013). Esse método pode ser uma alternativa viável, seja do ponto de vista econômico, seja do ponto de vista ambiental (RODRIGUES et al., 2006).

É importante ressaltar que a demanda por esses produtos alternativos é crescente e diversos estudos têm registrado a eficiência de extratos vegetais em promover a inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica (BARRERA-NECHA et al., 2009; BERNARDO et al., 2015; KURITA et al., 1981; PEREZ-SÁNCHEZ et al., 2007; RIBEIRO; BEDENDO, 1999; RODRIGUES et al., 2006; SCHWAN-ESTRADA et al., 2000; WILSON et al., 1997). A determinação da bioatividade dos extratos vegetais pode contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforcem sua

possível utilização como um método alternativo de controle de doença de plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. pertence à Botryosphaeriaceae, sendo um fungo amplamente distribuído em regiões tropicais e temperadas (CRUZ-AVILÉS et al., 2001). Botryosphaeriaceae possui distribuição cosmopolita, sendo uma família rica em espécies que inclui patógenos de uma grande variedade de plantas de angiospermas e gimnospermas (BARR, 1987; BHADRA et al., 2014; CHEN et al., 2011). Os membros dessa família são geralmente tratados como patógenos oportunistas devido as doenças que eles causam, as quais são quase sempre associadas com algum tipo de estresse ou ferimento (CIESLA et al., 1996; SLIPPERS; WINGFIELD, 2007).

*Lasiodiplodia theobromae* está associado a diferentes doenças como podridão-seca; cancro em ramos, caules e raízes; lesões em estacas, folhas, frutos e sementes; resultando inclusive na morte da planta (CIESLA et al., 1996; OLD; DAVISON, 2000; ROUX et al., 2001; SHEARER et al., 1987; SMITH et al., 1994). Além disso, este fungo pode colonizar tecidos saudáveis de plantas sem exibir sintomas (MOHALI et al., 2005). *L. theobromae* pode ocorrer principalmente em árvores de *Eucalyptus* spp., *Pinus* spp. e *Syzygium* spp. (PAVLIC et al., 2007; SLIPPERS et al., 2009; SMITH et al., 1996). Contudo, muitos Botryosphaeriaceae que ocorrem em *Eucalyptus* também já foram registrados em outros hospedeiros.

No Brasil, por exemplo, em diversas culturas de importância econômica *L. theobromae* já foi relatado, tais como: abacate (*Persea americana*, Lauraceae), banana (*Musa* spp., Musaceae), acerola (*Malpighia glabra*, Malpighiaceae), cajueiro (*Anacardium occidentale*, Anacardiaceae), citrus (*Citrus* spp., Rutaceae), coqueiro (*Cocos nucifera*, Arecaceae), pinha (*Annona squamosa*, Annonaceae), vinha (*Vitis* sp., Vitaceae), goiaba (*Psidium guajava*, Myrtaceae), manga (*Mangifera indica*, Anacardiaceae), melão (*Cucumis melo*, Cucurbitaceae), maracujá (*Passiflora edulis*, Passifloraceae), graviola (*A. muricata*, Annonaceae), melancia (*Citrullus lanatus*, Cucurbitaceae) (FREIRE et al., 2003; TAVARES, 2002;) e até mesmo em espécies florestais nativas, como o paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, Fabaceae) (TREMOCOLDI et al., 2009). No caso dos eucaliptos (*Eucalyptus* spp., Myrtaceae), este fitopatógeno é considerado uma ameaça significativa para a produção e sustentabilidade das plantações (MOHALI et al., 2009; RODAS et al., 2009).

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial fungitóxico, *in vitro*, do extrato bruto etanólico de *Gossypium arboreum* L. (algodão) em diferentes concentrações sob o desenvolvimento micelial do patógeno *L. theobromae*.

## Material e Métodos

### Obtenção do extrato e do fitopatógeno

O estudo foi realizado em setembro de 2013 nos Laboratórios de Microbiologia/Fitopatologia/Genética e de Cultivo/Isolamento do campus I da Universidade do Estado do Amapá/UEAP, localizada em Macapá, Amapá.

Para a condução do experimento foi utilizado o extrato bruto etanólico de *G. arboreum*, o qual foi obtido a partir de

folhas coletadas da planta no entorno da Área de Proteção Ambiental do Rio Curiaú, a 8 km de Macapá. Uma amostra coletada da planta foi herborizada, sendo devidamente identificada e depositada na coleção do Herbário da Universidade Federal do Amapá/HUFAP, sob número de registro 427. O extrato foi produzido e analisado fitoquimicamente no Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica da Universidade Federal do Amapá/UNIFAP.

Amostras do material coletado foram colocadas em estufa a uma temperatura média de 45 °C e, em seguida, moídas por rasuração manual com auxílio de almofariz e pistilo. O extrato foi obtido por extração a quente sob refluxo com o uso de álcool etílico 96% (EtOH) como solvente. Em seguida, o extrato foi filtrado e concentrado em roto evaporador sob temperatura de 50 °C e pressão reduzida.

Para a triagem fitoquímica foram realizadas reações analítico-qualitativas para identificação de flavonoides, alcaloides, fenois e taninos, esteroides e triterpenoides, depsídeos e depsídonas, ácidos orgânicos, polissacarídeos, açúcares redutores, saponinas espumílicas, antraquinonas e resinas (BARBOSA et al., 2004).

Para realização do ensaio microbiológico, utilizou-se o patógeno *L. theobromae* obtido na coleção fitopatológica da UEAP. Este fungo foi oriundo do caule de *Eucalyptus* spp. (amostras cedidas pela empresa Amapá Florestal e Celulose S/A – AMCEL).

#### Delineamento experimental

Para a determinação *in vitro* da atividade antifúngica do extrato foliar de *G. arboreum*, preparou-se inicialmente três concentrações: 5, 10 e 20 mg.mL<sup>-1</sup>. As concentrações foram adicionadas em meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) sintético, suplementado com cinco gotas do antibiótico cloranfenicol e vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após a solidificação do meio de cultura, discos de micélio (cerca de 4 mm de diâmetro) de *L. theobromae* cultivado em BDA foram transferidos para o centro das placas de cada tratamento, as quais foram organizadas em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com seis tratamentos e seis repetições: T1 (controle negativo) - BDA + 0 mg.mL<sup>-1</sup> (extrato foliar); T2 - BDA + 5 mg.mL<sup>-1</sup> (extrato foliar); T3 - BDA + 10 mg.mL<sup>-1</sup> (extrato foliar); T4 - BDA + 20 mg.mL<sup>-1</sup> (extrato foliar); T5 - BDA + 2,5 mL de etanol e T6 (controle positivo) - BDA + 2,5 mL de fungicida comercial

(Derosal®). Posteriormente, as placas foram vedadas com filme plástico e colocadas em incubadora do tipo B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio) sob temperatura de 25 ± 2 °C em fotoperíodo de 12 horas.

#### Avaliação do experimento

Após 24 horas da inoculação, iniciou-se a avaliação do crescimento micelial do patógeno *L. theobromae* diariamente a cada 24 horas, durante sete dias. Para redução do efeito natural de deformação das colônias foram registradas as médias dos diâmetros das colônias através de quatro medidas, em sentidos perpendiculares entre si. A partir dos dados obtidos durante a avaliação diária, as seguintes variáveis foram calculadas: inibição do crescimento micelial ICM (%) =  $(D-d).100/D$ , em que *D* é o diâmetro de crescimento do controle e *d* o diâmetro das placas com tratamento (BASTOS, 1997); índice de velocidade de crescimento micelial IVCM =  $\sum(D-D_0)/n$ , em que *D* é o diâmetro atual da colônia, *D<sub>0</sub>* é diâmetro da colônia do dia anterior e *n* a duração do período de avaliação (OLIVEIRA, 1991); e área abaixo da curva de crescimento micelial AACCM =  $[\sum(y_i+y_{i+1})/2.d_i]/n$ , em que *y<sub>i</sub>* e *y<sub>i+1</sub>* são os valores de crescimento da colônia observados em duas avaliações consecutivas, *d<sub>i</sub>* o intervalo entre as avaliações e *n* a duração do período de avaliação (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

#### Análise dos dados

Os dados foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (One Way Analysis of Variance on Ranks) ao nível de significância  $\alpha > 0,05$ , seguido pelo teste de Dunn com comparações múltiplas para determinar a significância das diferenças entre os tratamentos. Para a análise estatística, o programa Assistat 7.7 versão beta (ASSIS; SILVA, 2014) foi utilizado.

#### Resultados

Os resultados obtidos quanto ao efeito fungitóxico do extrato bruto etanólico de *G. arboreum* frente ao fitopatógeno *L. theobromae* estão representados na Tabela 1. De acordo com as avaliações realizadas aos 7 dias de incubação, nenhuma das concentrações do extrato testadas foram eficientes na redução do crescimento micelial do fungo, principalmente a concentração de 10 mg.mL<sup>-1</sup> (T3).

**Tabela 1.** Resultados obtidos para o extrato de *G. arboreum* sob o crescimento micelial de *L. theobromae*. Os valores que estão representados pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelas comparações múltiplas do teste de Kruskal-Wallis ( $\alpha > 0,05$ ). / **Table 1.** Results obtained for the extract of *G. arboreum* against mycelial growth of *L. theobromae*. The values represented by the same letters not differ statistically from each other by multiple comparisons of the Kruskal-Wallis test ( $\alpha > 0.05$ ).

Tratamentos	Diâmetro final (cm)*		ICM (%)		IVCM (cm.dia <sup>-1</sup> )		AACCM	
T1 - 0 mg.mL <sup>-1</sup> (controle negativo)	4,25	ab	0,00	ab	0,38	ab	3,41	ab
T2 - 5 mg.mL <sup>-1</sup> (extrato)	4,30	ab	-1,14	ab	0,43	abc	3,42	ab
T3 - 10 mg.mL <sup>-1</sup> (extrato)	4,50	b	-5,84	b	0,47	c	3,58	b
T4 - 20 mg.mL <sup>-1</sup> (extrato)	4,30	ab	-1,27	ab	0,44	bc	3,45	b
T5 - 2,5 mL etanol (controle positivo)	3,56	ab	16,49	ab	0,41	bc	2,82	ab
T6 - 2,5 mL fungicida (controle positivo)	0,00	a	100,0	a	0,00	a	0,00	a

\* Diâmetro da colônia no sétimo dia de avaliação. / Colony diameter on the seventh day of evaluation.

Para as variáveis diâmetro final e ICM não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos T2, T4 e T5 quando comparados ao controle negativo (T1). O tratamento

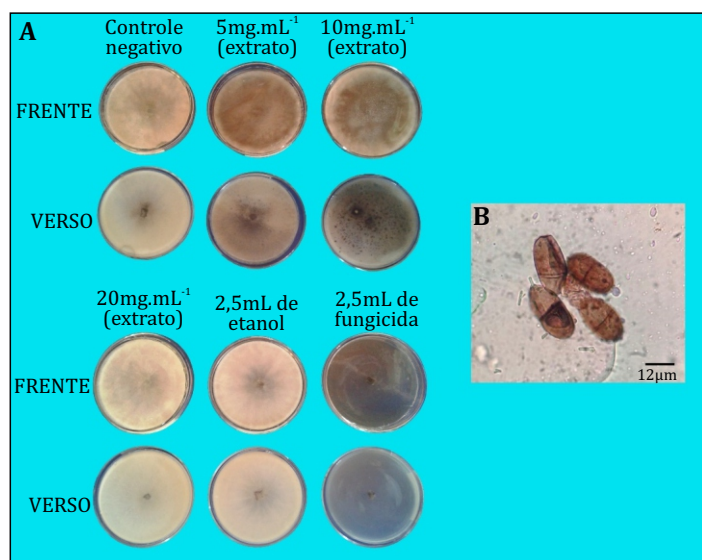
T3 apresentou a maior média de crescimento em diâmetro e, consequentemente, uma inibição de crescimento micelial negativa para *L. theobromae*.



Considerando a variável IVCm, o tratamento T3 apresentou a maior média em velocidade de crescimento micelial ( $0,47 \text{ cm.dia}^{-1}$ ), seguido dos tratamentos T5 e T4, os quais não diferiram estatisticamente entre si. É interessante observar que no tratamento T1 (controle negativo), a variável IVCm apresentou um valor mais baixo em comparação com os tratamentos T2, T3 e T4 (concentrações do extrato).

Com base na variável AACm, os tratamentos T3 e T4 apresentaram as maiores médias e não diferiram estatisticamente entre si. Para os tratamentos T1, T2 e T5 também não houve diferença estatística significativa. Além disso, como um resultado esperado, para todas as variáveis, o tratamento com fungicida (T6) foi 100% satisfatório na redução do crescimento micelial, demonstrando a alta sensibilidade de *L. theobromae* a este químico.

Vale ressaltar que, após os sete dias de avaliação foi possível observar que as concentrações de  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$  (T3) e de  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$  (T2) do extrato foliar de *G. arboreum* se mostraram ideais para o desenvolvimento de *L. theobromae*, isto porque as placas dos respectivos tratamentos apresentaram um desenvolvimento mais acelerado em relação as estruturas reprodutivas do fungo (Figura 1A-B).



**Figura 1.** A - Desenvolvimento micelial de *L. theobromae* em meio de cultura BDA associado ao extrato bruto etanólico das folhas de *G. arboreum*, após sete dias de inoculação. B - Esporos de *L. theobromae*, isolado de *Eucalyptus* spp. e cultivado em meio de cultura BDA. / **Figure 1.** A - Mycelial development of *L. theobromae* in PDA culture media associated with the crude ethanolic extract of *G. arboreum* leaves, after seven days of inoculation. B - Spores of *L. theobromae*, isolated from *Eucalyptus* spp. and cultivated in PDA culture media.

Na concentração de  $20 \text{ mg.mL}^{-1}$  (T4) é possível observar que o desenvolvimento das estruturas de *L. theobromae* foi similar à concentração de etanol (T5) (Figura 1A), o que é corroborado também na Tabela 1 para a maioria das variáveis em que não há diferença estatística entre estes dois tratamentos.

## Discussão

O extrato foliar de *G. arboreum* teve um efeito inverso, induzindo o crescimento micelial de *L. theobromae* (Tabela 1 e Figura 1A). Naturalmente, a redução do crescimento micelial é consequente da ação fungitóxica das substâncias presentes na composição das plantas bioativas. No entanto, Carvalho (2010) explica que, caso o extrato vegetal não manifeste efeito fungitóxico ou fungistático, a sua composição em termos de

substâncias importantes no metabolismo do fungo enriquecerá a composição nutritiva do meio de cultura produzindo o efeito inverso. Possivelmente, isto explica o efeito observado com o extrato de *G. arboreum* para as três concentrações testadas neste estudo.

Embora as concentrações de  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$  (T2) e de  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$  (T3) tenham proporcionado o crescimento micelial de *L. theobromae* e o desenvolvimento de suas estruturas reprodutivas (Figura 1B), a tendência deveria ser que na concentração de  $20 \text{ mg.mL}^{-1}$  (T4) o mesmo padrão se mantivesse, conforme o aumento da dose do extrato foliar de *G. arboreum*. No entanto, apesar do crescimento micelial de *L. theobromae* ter ocorrido no T4, este fungo não se desenvolveu em um curto período sua estrutura vegetativa, bem como não ocorreu esporulação, assim como observado para os tratamentos T2 e T3 (Figura 1A). Isto sugere que talvez em concentrações maiores do extrato, o efeito fungitóxico possa ser satisfatório frente ao *L. theobromae* ou até mesmo a outros fungos fitopatogênicos.

A exemplo disso, um estudo realizado por Okafor et al. (2001) com o extrato bruto das folhas de quatro espécies incluindo *G. arboreum* mostrou que esta espécie inibiu o crescimento micelial de três espécies fúngicas: *Trichophyton rubrum*, *Basidiobolus haptosporus* e *Ephidermophyton floccosum* nas concentrações entre 25 e  $100 \text{ mg.mL}^{-1}$ , concentrações mais altas quando comparadas às concentrações testadas neste trabalho.

Do mesmo modo, Menegassi et al. (2008) trabalharam com uréases (metaloenzimas) extraídas das sementes de *Gossypium hirsutum* e verificaram que as mesmas podem desempenhar efeito tanto antifúngico quanto fungistático, ou até mesmo matar os esporos fúngicos, inibindo a germinação dos fungos fitopatogênicos: *Colletotrichum musae*, *Curvularia luneta* e *Penicillium herquei*.

Recentemente, Mira-Neto e Almeida (2015) testaram o efeito do extrato bruto das folhas de *G. arboreum* em dois ensaios: primeiro, frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* nas concentrações de 25 mg/mL, 50 mg/mL e 100 mg/mL do extrato; segundo, frente às larvas de *Artemia salina* nas concentrações 50 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL e 1000 µg/mL. Os resultados foram satisfatórios apenas para o ensaio de toxicidade de *A. salina*, em que a concentração letal foi de  $CL_{50} = 238 \text{ µg/mL}$ , com toxicidade aguda para mais de 50% da população.

Por outro lado, Aladesanmi et al. (2007) testaram as propriedades de extratos metanólicos de 10 espécies com usos etnomedicinais na Nigéria, dentre eles o da casca de *G. arboreum*, contudo, estes autores não encontraram propriedades antibacterianas e/ou antifúngicas, tal como o resultado encontrado neste estudo para com o extrato das folhas desta espécie.

Diversos estudos buscaram alternativas para o controle de *L. theobromae*, um problema notoriamente limitante para a fruticultura tropical, em especial para o Nordeste do Brasil (OLIVEIRA et al., 2012) e um agente causador de doenças em plantios de *Eucalyptus* spp., inclusive já registrado para o estado do Amapá (PINTO, 2013). Lima et al. (2010), por exemplo, testaram *in vitro* o efeito fungitóxico de seis extratos de plantas nativas da Caatinga frente ao *L. theobromae* e concluíram que o extrato de alecrim-do-campo (*Lippia*

*microphylla*, Verbenaceae) apresentou o maior percentual de inibição do crescimento micelial deste fungo, o que consiste em uma alternativa viável para o controle de *L. theobromae*.

Adeniyi e Joseph (2015) também avaliaram a ação fungitóxica *in vitro* de quatro extratos vegetais (*Acalypha hispida*, Euphorbiaceae; *Chromolaena odorata*, Compositae; *Tetrapleura tetraptera*, Fabaceae; e *Azadirachta indica*, Meliaceae) frente ao *L. theobromae* e também obtiveram resultados satisfatórios, uma vez que todos os extratos apresentaram efeito positivo em inibir o crescimento do fungo.

No estudo realizado por Mota et al. (2002), o extrato foliar de *L. sidoides* (Verbenaceae) e os óleos essenciais de *L. sidoides* e *Piper aduncum* (Piperaceae) foram os que controlaram mais eficientemente o crescimento micelial de *L. theobromae*. Com apenas 12 mL do extrato foliar de *L. sidoides*, a inibição foi superior a 90%. Feitosa (2000) também obteve o controle de *L. theobromae* utilizando extratos de plantas medicinais, como arnica (*Arnica montana*, Compositae), juá (*Ziziphus joazeiro*, Rhamnaceae), manjerição-branco (*Ocimum basilicum*, Lamiaceae) e alfavaca (*O. gratissimum*, Lamiaceae), obtendo inibição de 60%, 62%, 91% e 100%, respectivamente, no crescimento micelial desse patógeno.

Em contrapartida, Bhadra et al. (2014) estudaram o efeito antagônico de espécies de *Trichoderma* – agentes de biocontrole conhecidamente muito eficazes contra diversos patógenos – frente ao *L. theobromae* e verificaram que *T. viride* apresentou inibição máxima, com melhor desempenho inclusive em comparação aos fungicidas comerciais também testados no estudo.

Vale ressaltar que embora propriedades antitumorais, inseticidas e antimicrobianas tenham sido relatadas (ANNAN; HOUGHTON, 2008; HEDIN et al., 1992; MIRA-NETO; ALMEIDA, 2015; SAIDU; ABDULLAHI, 2011; WAAGE; HEDIN, 1984; WONDIMU et al., 2007), devido aos diversos compostos químicos presentes nas partes da planta de *G. arboreum* – justificados pelo uso na medicina popular – o seu efeito antifúngico frente ao *L. theobromae* foi ineficaz.

Mira-Neto e Almeida (2015), após a triagem fitoquímica do extrato foliar de *G. arboreum*, detectaram a presença dos seguintes compostos químicos: alcaloides, fenois e taninos, saponinas espumílicas, depsídeos e depsídonas, além de esteroides e triterpenoides. No entanto, com base nos resultados obtidos nesse estudo não é possível inferir sobre qual substância presente no extrato foliar de *G. arboreum* possa ter enriquecido o meio de cultura e favorecido o desenvolvimento de *L. theobromae*.

## Conclusão

O extrato bruto etanólico das folhas de *G. arboreum* não apresentou atividade antifúngica *in vitro* frente ao fungo *L. theobromae* nas concentrações testadas. Os resultados mostraram que o extrato pode ter induzido o crescimento micelial do fungo, especialmente na concentração 10 mg.mL<sup>-1</sup>, a qual apresentou aparentemente condição ideal para o desenvolvimento do fungo. Em concentrações maiores, talvez o extrato de *G. arboreum* possa ter efeito positivo na redução do crescimento micelial de *L. theobromae* ou até mesmo de outros patógenos. Para isto, mais estudos são necessários.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade do Estado do

Amapá/UEAP e à Universidade Federal do Amapá/UNIFAP pelas infraestruturas cedidas para a execução deste trabalho, além da empresa Amapá Florestal e Celulose S/A - AMCEL por ceder amostras do fitopatógeno.

## Referências Bibliográficas

- ADEBAYO, J. O.; KRETTLI, A. U. Potential antimalarials from Nigerian plants: a review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 289-302, 2011.
- ADENIYI, D. O.; JOSEPH, A. *In-vitro* evaluation of plant extracts against *Lasiodiplodia theobromae* causing cashew inflorescent blight. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 13, p. 1139-1142, 2015.
- AJAIYEBOA, E. O.; ABIODUNB, O. O.; FALADEC, M. O.; OGBOLEA, N. O.; ASHIDIA, J. S.; HAPPID, C. T.; AKINBOYE, D. O. *In vitro* cytotoxicity studies of 20 plants used in Nigerian antimalarial ethnomedicine. **Phytomedicine**, v. 13, n. 4, p. 295-298, 2006.
- ALADESANMI, A. J.; IWALEWA, E. O.; ADEBAJO, A. C.; AKINKUNMI, E. O.; TAIWO, B. J.; OLORUNMOLA, F. O.; LAMIKANRA, A. Antimicrobial and antioxidant activities of some Nigerian medicinal plants. **African journal of traditional, complementary and alternative medicines**, v. 4, n. 2, p. 173-184, 2007.
- ANNAN, K.; HOUGHTON, P. J. Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation of aqueous extracts of *Ficus asperifolia* Miq. and *Gossypium arboreum* L., wound-healing plants of Ghana. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, n. 1, p. 141-144, 2008.
- ARAÚJO, J. L.; OLIVEIRA, E. S.; TEIXEIRA, F. N. Controle alternativo "*in vitro*" de *Sclerotium rolfsii* em girassol (*Helianthus annuus* L.) pelo uso de extratos vegetais e *Trichoderma* spp. **Essentia**, v. 5, n. 2, p. 25-35, 2014.
- ASSIS, E.; SILVA, F. A. Z. **Assistat 7.7 beta**. Campina Grande: UFCG, 2014.
- CRUZ-AVILÉS, J.; CIBRIÁN-TOVAR, D.; RAMÍREZ-MALDONADO, H.; GARCÍA-DÍAZ, S. E. Etiología y síndrome de los canchros *Cryphonectria*, *Lasiodiplodia* y *Fusicoccum* en eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh). **Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 27-37, 2001.
- BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, F. Q.; OLIVEIRA, R. M. **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais**, 2. ed. Belém: Revista científica da UFPA, 2004.
- BARR, M. E. **Prodromus to class Loculoascomycetes**. Department of Botany, University of Massachusetts, 1987.
- BARRERA-NECHA, L. L.; BATISTA-BANOS, S.; FLORES-MOCTEZUMA, H. E.; ESTUDILLO, A. R. Efficacy of essential oils on the conidial germination, growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc and control of postharvest diseases in papaya (*Carica papaya* L.). **Plant Pathology Journal**, v. 7, n. 2, p. 174-178, 2008.
- BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis perniciosa* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 44-3, 1997.
- BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004.
- BENTES-GAMA, M. M.; GAMA, J. R. V.; TOURINHO, M. M. Huertos caseros en la comunidad ribereña de Villa Cuera, en el Municipio de Braganca en el noroeste paraense. Home gardens in the riverine community of Villa Cuera, in the Braganca Municipality in Northeast Para, Brazil. **Agroforestería en las Américas (CATIE)**, v. 6, n. 24, p. 8-12, 1999.
- BERNARDO, R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; OLIVEIRA, J. S. B.; CRUZ, M. E. S.; MESQUINI, R. M. Atividade fungitóxica *in vitro* de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, n. 2, p. 89-93, 2015.
- BHADRA, M.; KHAIR, A.; HOSSAIN, M. A.; SIKDER, M. M. Efficacy of *Trichoderma* spp. and fungicides against *Lasiodiplodia theobromae*. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 49, n. 2, p. 125-130, 2014.
- BRINK, M.; ACHIGAN-DAKO, E. G. **Fibres**. PROTA, 2012.
- BRUBAKER, C. L.; BOURLAND, F. M.; WENDEL, J. F. The origin and domestication of cotton. In: SMITH, C. W.; COTHREN, J. T. (ed). **Cotton: origin, history, technology and production**. New York: John Wiley and Sons, 1999. pp. 3-31.



- BYND, J. W.; CHASE, M. W.; MAARTEN, J. M.; CHRISTENHUSZ, M. F. F.; JUDD, W. S.; MABBERLEY, D. J.; SENNIKOV, A. N.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; STEVENS, P. F. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, p. 1-20, 2016.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York, NY: Wiley, 1990. 532p.
- CARVALHO, P. R. S. **Extratos vegetais: potencial elicitador de fitoalexinas e atividade antifúngica em antracnose do cajueiro**. 2010. 64 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" /UNESP, Jaboticabal, SP, 2010.
- CHEN, S.; PAVLIC, D.; ROUX, J.; SLIPPERS, B.; XIE, Y.; WINGFIELD, M. J.; ZHOU, X. Characterization of Botryosphaeriaceae from plantation-grown *Eucalyptus* species in South China. **Plant Pathology**, v. 60, n. 4, p. 739-751, 2011.
- CIESLA, W. M.; DIEKMANN, M.; PUTTER, C. A. **Eucalyptus spp. FAO/IPGRI: Technical Guide-lines for the safe movement of germplasm, nº 17**, 1996.
- COELHO-FERREIRA, M.; JARDIM, M. A. G. Algumas espécies vegetais usadas pelos moradores da ilha de Algodão, Maiandeuá, município de Maracanã, Pará. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Ciências Naturais**, v. 1, n. 2, p. 45-51, 2005.
- COYLE, T.; LEVANTE, S.; SHETLER, M.; WINFIELD, J. *In vitro* and in vivo cytotoxicity of gossypol against central nervous system tumor cell lines. **Journal of neuro-oncology**, v. 19, n. 1, p. 25-35, 1994.
- DHUNDI, S. N.; YADAV, P.; HARISHA, C. R. Quality control parameters of Rakta Karpasa flower (*Gossypium arboreum* Linn.). **International Journal of Pharmacy & Life Sciences**, v. 3, n. 4, 2012.
- ECKERT, J. W.; OGAWA, J. M. The chemical control of postharvest diseases: subtropical and tropical fruits. **Annual Review of Phytopathology**, v. 23, n. 1, p. 421-454, 1985.
- FEITOSA, V. S. **Controle de fungos fitopatogênicos através de métodos alternativos**. 2000. 50 f. Monografia - Universidade Federal do Ceará/UFC, Fortaleza, 2000.
- FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P. (Ed.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003.
- FRYXELL, P. A. A revised taxonomic interpretation of *Gossypium* L. (Malvaceae). **Rheedeia**, v. 2, p. 108-165, 1992.
- HEDIN, P. A.; JENKINS, J. N.; PARROTT, W. L. Evaluation of flavonoids in *Gossypium arboreum* (L.) cottons as potential source of resistance to tobacco budworm. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, n. 2, p. 105-114, 1992.
- JOHN, M. J.; THOMAS, S. (Ed.). **Natural Polymers: Composites**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2012.
- KAZEEM, M. I.; ABIMBOLA, S. G.; ASHAF, A. O. T. Inhibitory potential of *Gossypium arboreum* leaf extracts on diabetes key enzymes,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 8, n. 2, p. 149-155, 2013.
- KURITA, N.; MIYAJI, M.; KURANE, R.; TAKAHARA, Y. Antifungal activity of components of essential oils. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 945-952, 1981.
- LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; CLARK, A. M.; MCCHESENEY, J. D. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. **Phytotherapy Research**, v. 4, n. 2, p. 82-84, 1990.
- LIMA, J. S.; PEREZ, J. O.; BARROS, P. N.; AZEVEDO, L. C.; MENDES, R. B.; PESSOA, R. A. Ação fungitóxica de extratos vegetais de plantas da caatinga sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. em *Vitis vinifera* L. In: **Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação**, 5., 2010. Anais... Maceió: CONNEPI, 2010, p. 23-26.
- LINHARES, F. P.; MING, L. C.; PINHEIRO, C. U. B.; RODRIGUES, M. I. A. Ethnobotany Approach Taperas of Maroon Communities of Alcântara, Maranhão, Brasil. **International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients**, v. 2, n. 3, 2015.
- MIRA-NETO, R.; ALMEIDA, S. S. M. S. Avaliação fitoquímica, microbiológica e citotóxica das folhas de *Gossypium arboreum* L. (Malvaceae). **Biota Amazônia**, v. 5, n. 2, p. 18-22, 2015.
- MENEGASSI, A.; WASSERMANN, G. E.; OLIVERA-SEVERO, D.; BECKER-RITT, A. B.; MARTINELLI, A. H. S.; FEDER, V.; CARLINI, C. R. Urease from cotton (*Gossypium hirsutum*) seeds: isolation, physicochemical characterization, and antifungal properties of the protein. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 12, p. 4399-4405, 2008.
- MOHALI, S.; BURGESS, T. I.; WINGFIELD, M. J. Diversity and host association of the tropical tree endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using simple sequence repeat markers. **Forest Pathology**, v. 35, n. 6, p. 385-396, 2005.
- MOHALI, S.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J. Pathogenicity of seven species of the Botryosphaeriaceae on *Eucalyptus* clones in Venezuela. **Australasian Plant Pathology**, v. 38, n. 2, p. 135-140, 2009.
- MOTA, J.; PESSOA, M.; ANDRADE, F. VIANA Y. M. Efeito de extractos e oleos essenciais de plantas medicinais no controle *in vitro* de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Venezolana**, v. 15, p. 2-6, 2002.
- OKAFOR, J. I.; EZE, E. A.; NJOKU, O. U. Antifungal activities of the leaves of *Baphia nitida*, *Cassia alata*, *Ficus exasperata* and *Gossypium arboreum*. **Nigerian Journal of Natural Products and Medicine**, v. 5, n. 1, p. 59-60.
- OLD, K. M.; DAVISON, E. M. Canker diseases of eucalypts. In: KEANE, P. J.; KILE, G. A.; PODGER, F. D.; BROWN, B. N. (Ed.). **Diseases and Pathogens of Eucalypts**. Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. p. 241-284.
- OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântula de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. 111 f. 1991. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras/UFLA, Lavras, MG.
- OLIVEIRA, M. Z. A. D.; PRATES, P. J.; BARBOSA, C. J.; ASSAMAR, C. C. Fungo *Lasiodiplodia theobromae*: um problema para agricultura baiana. **Bahia agrícola**, v. 9, p. 24-29, 2012.
- PAVLIC, D.; SLIPPERS, B.; COUTINHO, T. A.; WINGFIELD, M. J. Botryosphaeriaceae occurring on native *Syzygium cordatum* in South Africa and their potential threat to *Eucalyptus*. **Plant Pathology**, v. 56, n. 4, p. 624-636, 2007.
- PÉREZ-SÁNCHEZ, R.; INFANTE, F.; GÁLVEZ, C.; UBERA, J. L. Fungitoxic activity against phytopathogenic fungi and the chemical composition of *Thymus zygis* essential oils. **Food Science and Technology International**, v. 13, n. 5, p. 341-347, 2007.
- PINTO, P. V. S. **Efeito antagonista *in vitro* de *Trichoderma* sp. sobre *Lasiodiplodia* sp. em *Eucalyptus* sp. no Estado do Amapá**. 2013. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade do Estado do Amapá/UEAP, Macapá, 2013.
- RIBEIRO, L. F.; BEDENDO, I. P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agrícola**, v. 56, n. 4, p. 1267-1271, 1999.
- RODAS, C. A.; SLIPPERS, B.; GRYZENHOUT, M.; WINGFIELD, M. J. Botryosphaeriaceae associated with *Eucalyptus* canker diseases in Colombia. **Forest Pathology**, v. 39, n. 2, p. 110-123, 2009.
- RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; TUTIDA-FIORI, A. C. G. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto *in vitro* e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum, Agronomy**, v. 28, p. 123-127, 2006.
- ROUX, J.; COUTINHO, T. A.; MUJUNI BYABASHAIJA, D.; WINGFIELD, M. J. Diseases of plantation *Eucalyptus* in Uganda: research in action. **South African Journal of Science**, v. 97, n. 1 & 2, p. 16-18, 2001.
- SAIDU, T. B.; ABDULLAHI, M. Phytochemical determinations and antibacterial activities of the leaf extracts of *Combretum molle* and *Gossypium arboreum*. **Bayero Journal of Pure and Applied Sciences**, v. 4, n. 2, p. 132-136, 2011.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. 12, 2000.
- SCOLES, R. Sabiduria popular y plantas medicinales: el ejemplo de la comunidad negra de Itacoã, Acará, Pará. **Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi, Ciências Naturais**, Belém, v. 1, n. 2, p. 79-102, 2006.
- SCUDELLER, V. V.; VEIGA, J. B.; ARAÚJO-JORGE, L. H. Etnoconhecimento de plantas de uso medicinal nas comunidades São João do Tupé e Central (Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé). In: SANTOS-SILVA, E. N.; SCUDELLER, V. (Ed.). **Biotupé: Meio Físico, Diversidade Biológica e Sociocultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central**. Manaus: UEA Edições, 2009. pp. 185-199.

- SHEARER, B. L.; TIPPETT, J. T.; BARTLE, J. R. *Botryosphaeria ribis* infection associated with death of *Eucalyptus radiata* in species selection trials. **Plant disease**, v. 71, n. 2, p. 140-145, 1987.
- SILVA, R. B. L. **A etnobotânica de plantas medicinais da comunidade quilombola de Curiaú, Macapá-AP, Brasil**. 172 f. 2002. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural da Amazônia/UFRA, Belém, PA, 2002.
- SITTON, J. W.; PATTERSON, M. E. Effect of high-carbon dioxide and low-oxygen controlled atmospheres on postharvest decays of apples. **Plant disease**, v. 76, n. 10, p. 992-995, 1992.
- SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. **Fungal biology reviews**, v. 21, n. 2, p. 90-106, 2007.
- SLIPPERS, B.; BURGESS, T.; PAVLIC, D.; AHUMADA, R.; MALEME, H.; MOHALI, S.; RODAS, C.; WINGFIELD, M. J. A diverse assemblage of Botryosphaeriaceae infect *Eucalyptus* in native and non-native environments. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**, v. 71, n. 2, p. 101-110, 2009.
- SMITH, H.; KEMP, G. H. J.; WINGFIELD, M. J. Canker and die-back of *Eucalyptus* in South Africa caused by *Botryosphaeria dothidea*. **Plant pathology**, v. 43, n. 6, p. 1031-1034, 1994.
- SMITH, H.; WINGFIELD, M. J.; PETRINI, O. *Botryosphaeria dothidea* endophytic in *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus nitens* in South Africa. **Forest ecology and management**, v. 89, n. 1, p. 189-195, 1996.
- STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011.
- TAVARES, S. C. H. Epidemiologia e manejo integrado de *Botryodiplodia theobromae*-situação atual no Brasil e no mundo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 46-52, 2002.
- TREMACOLDI, C. R.; LUNZ, A. M.; SOUZA-COSTA, F. R. Cancro em Paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*) no Estado do Pará. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 59, p. 69, 2010.
- WAAGE, S. K.; HEDIN, P. A. Biologically-active flavonoids from *Gossypium arboreum*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 11, p. 2509-2511, 1984.
- WILSON, C. L.; SOLAR, J. M.; EL GHOUTH, A.; WISNIEWSKI, M. E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant disease**, v. 81, n. 2, p. 204-210, 1997.
- WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M. E. **Biological control of postharvest diseases**: theory and practice. Boca Raton: CRC Press, 1994. 465p.
- WONDIMU, T.; ASFAW, Z.; KELBESSA, E. Ethnobotanical study of medicinal plants around 'Dheeraa' town, Arsi Zone, Ethiopia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 1, p. 152-161, 2007.